



⑬ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 197 26 429 A 1**

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>  
**A 61 L 2/16**  
A 23 L 3/349  
// (A01N 43/16,31:04,  
37:10)

⑦ Aktenzeichen: 197 26 429.8  
② Anmeldetag: 23. 6. 97  
④ Offenlegungstag: 24. 12. 98

DE 197 26 429 A 1

⑦ Anmelder:  
Schür, Jörg Peter, Prof., 41065 Mönchengladbach,  
DE  
⑦ Vertreter:  
Dres. Fitzner, Münch & Jungblut, Rechts- und  
Patentanwälte, Ratingen-Berlin, 40878 Ratingen

⑦ Erfinder:  
Antrag auf Nichtnennung

⑤ Entgegenhaltungen:  
DE 31 38 277 C2  
US 49 27 651 A  
US 44 46 161 A  
WO 94 14 414 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

④ Verfahren und Additiv zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten

⑦ Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und ein Additiv sowie dessen Verwendung zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten durch Zusatz von Additiven, wobei als Additiv ein Gemisch eingesetzt wird, das

a) Polyphenol, insbesondere Tannin, Catechin, Flavon, Gerbsäure, Gallussäure sowie deren Derivate ggf. im Gemisch mit wenigstens einem weiteren einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen und/oder

b) Benzylalkohol im Gemisch mit wenigstens einem weiteren, ggf. von den in Komponente a) verwendeten Verbindungen verschiedenen, einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen,

c) ggf. wenigstens eine, von den in Komponente a) verwendeten Verbindungen verschiedene organische Säure und/oder wenigstens eines von deren physiologischen Salzen mit 1 bis 15 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 10 C-Atomen,

d) ggf. Phenole, Acetate, Ester, Terpene, Acetale und/oder ätherische Öle und

e) ggf. einen Lösungsvermittler, insbesondere Glycerin, Propylen glycol, Wasser, Speiseöle, Fette enthält,

wobei das Mischungsverhältnis der Komponenten a) zu b), c), d), e) jeweils zwischen 1 : 1 bis 1 : 10000 und 10000 : 1 bis 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 bis 1 : 1000 und 1000 : 1 bis 1 : 1 liegt.

DE 197 26 429 A 1

BEST AVAILABLE COPY

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und ein Additiv sowie dessen Verwendung zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten durch Zusatz von Additiven.

5 Industriell bearbeitete Nahrungs- und Futtermittel, Kosmetika, Pharmazeutika und andere für mikrobielle Verderbnis anfällige Produkte müssen eine gewisse, nicht zu kurze Zeit haltbar sein, um nach einem Transport und Vertrieb über die üblichen Wege unverdorben den Verbraucher zu erreichen. Der Verbraucher erwartet darüber hinaus, daß das erworbene Produkt auch nach dem Kauf nicht sofort verdorbt, sondern, je nach Produkt, einige Tage oder Wochen auf Vorrat gehalten werden kann.

10 Unbehandelt würden die meisten Nahrungs- und Futtermittel innerhalb weniger Tage verderben, da sich Pilze und/oder Bakterien ungehindert, allenfalls durch Kühlung beeinträchtigt, auf einem für sie idealen Nährboden vermehren könnten. Typische Beispiele sind der Verderb von Brot durch Schimmelpilze, z. B. *Aspergillus niger*, von Fleischprodukten (z. B. Wurst) durch Enterobakterien oder Lactobacillen, die Kontamination von Geflügel durch Salmonellen und vieles andere mehr. Da Pilze einschließlich Hefen bzw. deren Sporen, Grampositive und Gramnegative Bakterien überall vorhanden sind, wo nicht durch besondere, kostspielige und industriell aus ökonomischen Erwägungen nicht anwendbare Maßnahmen ein steriles Umfeld geschaffen wird, müssen geeignete Gegenmaßnahmen getroffen werden.

Herkömmlicherweise werden daher Nahrungs- und Futtermittel, Kosmetika, Pharmazeutika, Farben, Papier und Zellstoffe und andere verderbliche Produkte mit Konservierungsmitteln haltbar gemacht, die laut der Codex Alimentarius Liste der Food and Agriculture Organisation (FAO/WHO Food Standard Programme) in Division 3 Food Additives Preservatives 3.73 als "synthetische Konservierungsmittel" aufgeführt und meist in Form von chemischen Monosubstanzen oder deren Kombinationen eingesetzt werden.

Aus dem Stand der Technik ist eine Vielzahl von Additiven zur Konservierung von verderblichen Produkten bekannt. Hierzu zählen z. B. Additive auf der Basis von Aromastoffen, Alkoholen, organischen Säuren, Aldehyden, phenolischen Stoffen und ätherischen Ölen. Solche Zusammensetzungen sind beispielsweise in der US-Patentschrift 4.446.161 und 25 der DE-OS 31 38 277 sowie in E. Lück (Chemische Lebensmittelkonservierung, Seite 1977, 1986 Springer-Verlag) beschrieben.

Die in der erwähnten Liste aufgeführten Konservierungsmittel sind bakteriostatisch und/oder fungistatisch wirksam und verbessern die Haltbarkeit wesentlich. Sie werden jedoch von vielen Verbrauchern abgelehnt, da ihre Auswirkungen auf die Gesundheit des Verbrauchers nicht bekannt sind, bzw. schädliche Einflüsse, insbesondere bei wiederholter Aufnahme über einen langen Zeitraum, nicht ausgeschlossen werden können. Nachteilig ist auch, daß alle bisher bekannten Verfahren auf der Änderung des pH-Werts oder  $a_w$ -Werts beruhen.

Nachteilig bei diesen Konservierungsmitteln ist insbesondere, daß sie regelmäßig hohen Konzentrationen dem Nahrungsmittel zugegeben werden. Dadurch gelangen relativ große Mengen dieser Mittel beim Verzehr auch in den menschlichen Körper. Die Folge sind die heute vielfach gehäuft auftretenden Reaktionen in Form allergischer Erkrankungen.

35 Eine Alternative zur Konservierung durch Zusatz von synthetischen Konservierungsmitteln ist die thermische Inaktivierung von Keimen, z. B. durch Pasteurisieren. Unter Pasteurisieren versteht man eine thermische Behandlung von 30 bis 120 Minuten Einwirkzeit bei 70 bis 85°C.

Die Pasteurisierung verbessert die Haltbarkeit derart behandelter Produkte erheblich, ist jedoch technisch aufwendig und verbraucht sehr viel Energie. Die Lebensfähigkeit von Sporen wird darüber hinaus oft nicht oder nur sehr unvollständig beeinträchtigt. Eine Pasteurisierung ist außerdem für temperaturempfindliche Produkte nicht anwendbar oder führt zu einem nicht unerheblichen Qualitätsverlust, da spätestens durch das oftmals notwendige zweite Thermisieren (bis zu 85°C) der "Frischegrad" des pasteurisierten Produktes nachläßt. Außerdem sind gerade wertvolle Bestandteile von Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika, z. B. Vitamine, Aminosäuren und viele pharmazeutische Wirkstoffe, thermolabil, so daß sich eine thermische Behandlung unter den üblichen Pasteurisierungsbedingungen verbietet.

45 Eine weitere Möglichkeit zur Verbesserung der Haltbarkeit ist es, das von Verderbnis bedrohte Produkt unter Stickstoff oder CO<sub>2</sub> luftdicht zu verpacken oder in Vakuumverpackungen bereitzustellen, wie es z. B. bei gemahlenem Kaffee gehandhabt wird. Diese Verfahren sind jedoch teuer und aufwendig und daher für viele Nahrungsmittel nicht anwendbar.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es demgemäß, ein Verfahren zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten durch Zusatz von Additiven zur Verfügung zu stellen, das die genannten Nachteile des Standes der Technik nicht aufweist.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, daß als Additiv ein Gemisch eingesetzt wird, das

- a) Polyphenol, insbesondere Tannin, Catechin, Flavon, Gerbsäure, Gallussäure sowie deren Derivate ggf. im Gemisch mit wenigstens einem weiteren einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen und/oder
- 55 b) Benzylalkohol im Gemisch mit wenigstens einem weiteren, ggf. von den in Komponente a) genannten Verbindungen verschiedenen, einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen,
- c) ggf. wenigstens eine, von den in Komponente a) genannten Verbindungen verschiedene organische Säure und/oder wenigstens eines von deren physiologischen Salzen mit 1 bis 15 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 10 C-Atomen,
- 60 d) ggf. Phenole, Acetate, Ester, Terpene, Acetale und/oder ätherische Öle und
- e) ggf. einen Lösungsvermittler, insbesondere Glycerin, Propylenglycol, Wasser, Speiseöle, Fette enthält, wobei das Mischungsverhältnis der Komponenten a) zu b), c), d), e) jeweils zwischen 1 : 1 bis 1 : 10.000 und 10.000 : 1 bis 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 bis 1 : 1000 und 1000 : 1 bis 1 : 1 liegt. Besonders bevorzugt ist
- 65 ein Mischungsverhältnis zwischen 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1.

Im folgenden werden die erfindungsgemäß vorzugsweise einsetzbaren Stoffe im einzelnen näher beschrieben: Vorzugsweise besteht das Additiv nur aus der Komponente a) ggf. in Kombination mit den Komponenten c) bis e). Mög-

lich ist hierbei der Einsatz von Polyphenolen ohne Zusatz von Alkoholen. Als Polyphenole kommen vorzugsweise Tannin, Gatchin, Flavon in Betracht, bevorzugt ist insbesondere Tannin.

In der Komponenten a) können jedoch zusätzlich verschiedene Alkohole eingesetzt werden. Vorzugsweise handelt es sich dabei um einwertige oder mehrwertige Alkohole mit 2 bis 10 C-Atomen vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen.

Im einzelnen können beispielsweise folgende Alkohole zum Einsatz kommen:

Acetoin (Acetylmethylcarbinol), Ethylalkohol (Ethanol), Propylalkohol (1-Propanol), iso-Propylalkohol (2-Propanol, Isopropanol), Propylenglykol, Glycerin, n-Butylalkohol (n-Propylcarbinol), iso-Butylalkohol (2-Methyl-1-propanol), Hexylalkohol (Hexanol), L-Menthol Octylalkohol (n-Octanol), Phenylethylalkohol (2-Phenylethanol), Zimtalkohol (3-Phenyl-2-propen-1-ol),  $\alpha$ -Methylbenzylalkohol (1-Phenylethanol), Heptylalkohol (Heptanol), n-Amylalkohol (1-Pentanol), iso-Amylalkohol (3-Methyl-1-butanol), Anisalkohol (4-Methoxybenzylalkohol, p-Anisalkohol), Citronellol, n-Decylalkohol (n-Decanol), Geraniol,  $\beta$ - $\gamma$ -Hexenol (3-Hexenol), Hydrozimtalkohol (3-Phenyl-1-propanol), Laurylalkohol (Dodecanol), Linalool, Nerolidol, Nonadienol (2,6-Nonadien-1-ol) Nonylalkohol (Nonanol-1), Rhodinol, Terpineol, Borneol, Glineol (Eucalyptol), Anisol, Cuminylalkohol (Cuminol), 1-Phenyl-1-propanol, 10-Undecen-1-ol, 1-Hexadecanol.

Vorzugsweise werden solche Mengen an Polyphenol und Alkoholen eingesetzt, daß das Mischungsverhältnis von Alkohol zu Polyphenol zwischen 1 : 1 und 1 : 1.000 oder Polyphenol zu Alkohole zwischen 1 : 1 und 1 : 1.000, insbesondere 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 beträgt.

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält Komponente a) Polyphenol, bevorzugt Tannin und Benzylalkohol. Ganz besonders bevorzugt ist, daß Komponente a) ein Gemisch aus Tannin und Benzylalkohol enthält, dessen Mischungsverhältnis zwischen 1 : 1 und 1 : 1.000 oder 1 : 1.000 und 1 : 1, ganz besonders 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 bevorzugt ist. Ganz besonders ist hierbei bevorzugt, daß das Additiv nur die Komponente a) enthält. Höchst bevorzugt ist demgemäß erfindungsgemäß ein Additiv bestehend aus Polyphenol, vorzugsweise Tannin und Benzylalkohol, vorzugsweise in dem angegebenen Mischungsverhältnis.

In Komponente b) ist Benzylalkohol im Gemisch mit weiteren Alkoholen enthalten. Bei diesen handelt es sich vorzugsweise um die o.g. Verbindungen. Sofern bereits die Komponente a) Alkohole enthält, sind in Komponente b) hiervon verschiedene Verbindungen enthalten. Dabei wird ein Mischungsverhältnis von Benzylalkohol zu den weiteren Alkoholen zwischen 1 : 1 und 1 : 10.000 oder 10.000 : 1 und 1 : 1, vorzugsweise 1 : 1.000 und 1 : 1 oder 1 : 1 und 1 : 1.000, insbesondere zwischen 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 bevorzugt.

Die Komponenten a) und b) sind alternativ oder kumulativ einsetzbar. Im ersten Fall heißt das, daß Komponente a) ggf. den Kombination mit den Komponenten c) bis e) verwendet werden kann. Umgekehrt kann Komponente b) ihrerseits in Kombination mit den Komponenten c) bis e) eingesetzt werden. Vorzugsweise können die Komponenten a) und b) jeweils ohne die Komponenten c) bis e) eingesetzt werden. Insbesondere bevorzugt sind demgemäß der alleinige Einsatz von Tannin und der alleinige Einsatz von Benzylalkohol im Gemisch mit dem o.g. weiteren Alkoholen.

Ganz besonders bevorzugt ist jedoch die Kombination der Komponenten a) und b). In diesem Fall enthält Komponente a) vorzugsweise keine weiteren Alkohole, insbesondere keinen Benzylalkohol. Sofern in Komponente a) jedoch Alkohole vorhanden sind, werden in Komponente b) hiervon verschiedene Verbindungen eingesetzt. Zu den höchst bevorzugten Additiven gehört demgemäß ein Gemisch enthaltend Polyphenol und Benzylalkohol im Gemisch mit weiteren Alkoholen. Dabei wird ein Mischungsverhältnis von 1 : 1 bis 1 : 1.000 und 1 : 1.000 bis 1 : 1, insbesondere 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 bevorzugt.

Als Komponente c) sind Säuren und/oder deren physiologisch verträgliche Salze einsetzbar. Vorzugsweise kommen organische Säure und/oder deren Salze zum Einsatz. Hierbei handelt es sich bevorzugt um solche Verbindungen, die 1 bis 15 C-Atome, vorzugsweise 2 bis 10 C-Atome enthalten.

Im einzelnen können beispielsweise folgende Säuren zum Einsatz kommen:

Essigsäure, Aconitsäure, Adipinsäure, Ameisensäure, Apfelsäure (1-Hydroxybernsteinsäure), Capronsäure, Hydrozimtsäure (3-Phenyl-1-propionsäure), Pelagonsäure (Nonansäure), Milchsäure (2-Hydroxypropionsäure), Phenoxyyessigsäure (Glykolsäurephenylether), Phenylessigsäure ( $\alpha$ -Toluolsäure), Valeriansäure (Pentansäure), iso-Valeriansäure (3-Methylbutansäure), Zimtsäure (3-Phenylpropionsäure), Citronensäure, Mandelsäure (Hydroxyphenylessigsäure) Weinsäure (2,3-Dihydroxybutandisäure; 2,3-Dihydroxybernsteinsäure), Fumarsäure, z. B. Milchsäure, bevorzugt.

In Komponente d) kommen folgende Verbindungen zum Einsatz:

Als Phenole sind z. B. Thymol, Methyleugenol, Acetyleugenol, Saffrol, Eugenol, Isoeugenol, Anethol, Phenol, Methylchavicol (Estragol; 3-4-Methoxyphenyl-1-propen), Carvacrol,  $\alpha$ -Bisabolol, Fomesol, Anisol (Methoxybenzol), Propenylguaethol (5-Propenyl-2-ethoxyphenol) verwendbar.

Als Acetate kommen z. B. Iso-Amylacetat (3-Methyl-1-butylacetat), Benzylacetat, Benzylphenylacetat, n-Butylacetat, Cinnamylacetat (3-Phenylpropenylacetat), Citronellylacetat, Ethylacetat (Essigester), Eugenolacetat (Acetyleugenol), Geranylacetat, Hexylacetat (Hexanylethanoat), Hydrocinnamylacetat (3-Phenyl-propylacetat), Linalylacetat, Octylacetat, Phenylethylacetat, Terpinylacetat, Triacetin (Glycerylacetat), Kaliumacetat, Natriumacetat, Natriumdiacetat, Calciumacetat zum Einsatz.

Als Ester ist z. B. Allicin verwendbar.

Als Terpene kommen z. B. Gampher, Limonen,  $\beta$ -Caryophyllen in Betracht.

Zu den einsetzbaren Acetalen zählen z. B. Acetal, Acetaldehyddibutylacetal, Acetaldehyddipropylacetal, Acetaldehydphenethylpropylacetal, Zimtaldehydethylenglycolacetal, Decanaldimethylacetal, Heptanaldimethylacetal, Heptanalglycerylacetal, Benzaldehydpropylenglykolacetal.

Einsetzbar sind auch Aldehyde, z. B. Acetaldehyd, Anisaldehyd, Benzaldehyd, iso-Butylaldehyd (Methyl-1-propanal), Citral, Citronellal, n-Capraldehyd (n-Decanal), Ethylvanillin, Fufurol, Heliouropin (Piperonal), Heptylaldehyd (Heptanal), Hexylaldehyd (Hexanal), 2-Hexenal ( $\beta$ -Propylacrolein), Hydrozimtaldehyd (3-Phenyl-1-propanal), Laurylaldehyd (Dodecanal), Nonylaldehyd (n-Nonanal), Octylaldehyd (n-Octanal), Phenylacetaldehyd (1-Oxo-2-phenylethan), Propionaldehyd (Propanal), Vanillin, Zimtaldehyd (3-Phenylpropenal), Perillaaldehyd, Cuminaldehyd.

## DE 197 26 429 A 1

Vorzugsweise sind erfindungsgemäß auch Lösungsvermittler in dem Additiv vorhanden. Denn bei den erfindungsgemäß eingesetzten Additiven handelt es sich im Prinzip um Aromastoffe. Die meisten der in der GRAS FEMA-Liste aufgeführten Aromastoffe sind nicht wasserlöslich, d. h. hydrophob. Werden sie in hauptsächlich fetthaltigen Nahrungsmitteln eingesetzt, so sind sie aufgrund ihres lipophilen Charakters direkt ohne Lösungsmittel verwendbar. Der Anteil lipophiler Nahrungsmittel ist jedoch relativ gering. Um in den meistens hydrophilen Nahrungs- oder Futtermitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika ihre Wirkung entfalten zu können, werden sie bevorzugt in Verbindung mit einem wasserlöslichen Lösungsvermittler eingesetzt. Hierbei handelt es sich vorzugsweise um Glycerin, Propylenglycol, Wasser, Speiseöle oder Fette.

Erfindungsgemäß einsetzbar sind beispielsweise die im folgenden aufgeführten ätherischen Öle und/oder alkoholischen, glycolischen oder durch CO<sub>2</sub>-Hochdruckverfahren erhaltenen Extrakte aus den Pflanzen:

- a) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Alkoholen:  
Melisse, Koriander, Kardamom, Eukalyptus;
- b) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Aldehyden:  
Eukalyptus citriodora, Zimt, Zitronen, Lemongras, Melisse, Citronella, Limette, Orange;
- c) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Phenolen:  
Origanum, Thymian, Rosmarin, Orange, Nelke, Fenchel, Campher, Mandarine, Anis, Cascarille, Estragon und Piment;
- d) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Acetaten:  
Lavendel;
- e) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Estern:  
Senf, Zwiebel, Knoblauch;
- f) Öle bzw. Extrakte mit hohem Anteil an Terpenen:  
Pfeffer, Pomeranze, Kümmel, Dill, Zitronen, Pfefferminz, Muskatnuss.

Die beschriebenen Additive werden vorzugsweise zur Haltbarkeitsverbesserung und Stabilisierung von folgenden Gruppen von Nahrungsmitteln verwendet:

Brot, Backwaren, Backmittel, Backpulver, Puddingpulver, Getränken, diätetischen Lebensmitteln; Essenzen, Feinkost, Fisch und Fischprodukten, Kartoffeln und Produkten auf Kartoffelgrundlage, Gewürzen, Mehl, Margarine, Obst und Gemüse und Produkten auf Grundlage von Obst und Gemüse, Sauerkonserven, Stärkeprodukten, Süßwaren, Suppen, Teigwaren, Fleisch- und Fleischwaren, Milch-, Molkerei- und Käseprodukten, Geflügel und Geflügelprodukten, Ölen, Fetten und öl- oder fetthaltigen Produkten.

Die erfindungsgemäßen Additive sind insbesondere gegen Schimmelpilze, Hefen und Bakterien (Grampositive und Gramnegative) wirksam. Vor allem gegen pathogene Erreger (Enterobacteriaceae, z. B. E. Coli, Salmonellen, Enterokokken, z. B. Staphylokokken, Streptokokken, wie auch gegen Verderbniserreger wie z. B. Milchsäurebakterien z. B. Lactobacillus vulgaris, Schimmelpilze, z. B. Aspergillus niger, Hefen, z. B. Endomyces übliger, wirken sie hervorragend.

Die Additive werden vorzugsweise in Mengen von 1 ppm bis 10 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen verderblichen Produkt zugesetzt. Besonders bevorzugte Mengen sind 0,001 Gew.-% bis 0,5 Gew.-%. Ganz besonders sind bevorzugt 0,002 Gew.-% bis 0,25 Gew.-%.

Es ist erfindungsgemäß überraschend, daß die Wirkung der erfindungsgemäßen Additive bereits bei Anwendung der genannten geringen Konzentrationen auftritt. Dies ist um so überraschender, als die mit den erfindungsgemäßen Additiven behandelten Nahrungsmittel eine erheblich längere Haltbarkeit aufweisen als die mit herkömmlichen Konservierungsstoffen behandelten verderblichen Produkte.

Die erfindungsgemäßen Additive führen überraschenderweise zu keinen Nachteilen im Geschmack, Geruch oder Farbe bei den behandelten Nahrungsmitteln. Ein besonderer Vorteil gegenüber dem bisherigen Stand der Technik ist, daß keinerlei Verschiebungen des pH-Werts oder a<sub>w</sub>-Werts zu verzeichnen sind. D. h., die Wirkung der eingesetzten Additive ist überraschenderweise unabhängig vom pH-Wert und a<sub>w</sub>-Wert. Ebenso überraschend ist es, daß die Additive unabhängig von der Feuchtigkeit, dem Fett-, Eiweiß- und Kohlenhydratgehalt verwendbar sind.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher beschrieben:

### Bakteriologische Testverfahren für Additive

- Quantitativer Suspensionstest I (Keimträgerversuch)
- 55 - Quantitativer Suspensionstest II (Suspensionsversuch)
- quantitativer Suspensionstest III (Agardiffusionstest)

Mikroorganismen: Aerobe Mikroorganismen (Gesamtkeimzahl), Enterobacteriaceae, Enterokokken, Lactobacillen, Hefen, Schimmelpilze. Bei diesen Verfahren können mit unterschiedlichen Mikroorganismen, auf unterschiedlichen Nährböden Wirkungen der Additive in Abhängigkeit von der Dosierung und Einwirkzeit ermittelt werden.

### Quantitativer Suspensionstest I

#### Keimträger-Versuch

65 Suspension je nach Testkeim:  
Ringer Lösung  
Tryptone Soja Bouillon

# DE 197 26 429 A 1

|  |    |
|--|----|
| Chromocult Enterokokken Boillon  |    |
| Würze-Boillon  |    |
| Keimträger:  |    |
| 5 x 5 cm autoklaviertes Baumwolltuch oder Filter                           | 5  |
| Nähragar:  |    |
| Gesamt-Aerobier < Plate-Count-Agar (Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt Agar) |    |
| Chromocult < Enterococcus faecalis   |    |
| Enterococcus faecium   |    |
| Streptococcus bovis  | 10 |
| Streptococcus aureus   |    |
| OGYE-Selektivnährboden (Hefeextrakt-Glucose-Oxytetracyclin)                |    |
| Microorganismen (Schimmelpilze)  | 15 |
| Aspergillus niger  |    |
| Saccharomyces  |    |
| Desoxycholat-Lactose-Agar  | 20 |
| Microorganismen  |    |
| Lactose-positiv - Escherichia coli   |    |
| Lactose schwach-positiv - Enterobacter (cloacae)                           |    |
| Lactose - schwach-positiv - Klebsiella (pneumoniae)                        | 25 |
| Lactose-negativ - Salmonella (typhimurium u. enteritidis)                  |    |
| Lactose-negativ - Shigella (flexneri)                                      |    |
| Lactose-negativ - Proteus (mirabilis)                                      |    |
| Lactose-negativ - Pseudomonas  | 30 |
| Lactose-negativ - Enterococcus (faecalis)                                  |    |
| MRS-AGAR (Lactobacillus)   |    |
| Lactobacillus vulgaris   |    |
| Baird-Parker-Agar (mit Eigelb-Tellurit-Emulsion)                           | 35 |
| Microorganismen  |    |
| Staphylococcus aureus  |    |
| Staphylococcus epidermidis   | 40 |
| Micrococcus (Enterococcus faecium)   |    |
| Bacillus subtilis  |    |
| Hefen: Endomyces übliger   |    |
| Cereus-Selektivagar nach Mossel (mit Eigelbemulsion)                       | 45 |
| Microorganismen  |    |
| Bacillus cereus  |    |
| Bacillus cereus  |    |
| Bacillus subtilis  | 50 |
| Escherichia coli   |    |
| Pseudomonas aeruginosa   |    |
| Proteus mirabilis  |    |
| Staphylococcus aureus  | 55 |
| Desoxycholat-Lactose-Agar  |    |
| Microorganismen  |    |
| Lactose-positiv-Escherichia coli   |    |
| Lactose-schwach-positiv - Enterobacter (cloacae)                           | 60 |
| Lactose-schwach-positiv - Klebsiella (pneumoniae)                          |    |
| Lactose-negativ - Salmonella (typhimurium u. enteritidis)                  |    |
| Lactose-negativ - Shigella (flexneri)                                      |    |
| Lactose-negativ - Proteus (mirabilis)                                      |    |
| Lactose-negativ - Pseudomonas (Enterococcus faecalis)                      | 65 |

# DE 197 26 429 A 1

TGE-Agar (Caseinpepton-Glucose-Fleischextrakt-Agar)

## Microorganismen

- 5 *Staphylococcus aureus*
- Streptococcus agalactiae*
- Enterococcus faecalis*
- Escherichia coli*
- Salmonella typhimurium*
- 10 *Pseudomonas aeruginosa*
- Bacillus cereus*
- Suspensionstest
- Quantitativer Keimträgerversuch

## 15 Kontamination der Keimträger

Die Kontamination der Keimträger erfolgt nach Einlegen in eine sterile Glasschale durch Übergießen der Testkeimsuspension ( $\geq 10^6$ /pro ml). Nach 1–10 min. langer Lagerung werden die Keimträger in einer mit sterilem Filterpapier ausgelegten Glasschale verteilt und im Brutschrank bei  $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  getrocknet.

20

## Prüfung

Die kontaminierten und getrockneten Keimträger werden in sterile Glasschalen gelegt und mit je (gr. %/Rezep.) getränkt; 1 h gelagert und für den jeweils vorgesehenen Agar/Testkeim gelegt und im Brutschrank unter der vorgeschriebenen Temperatur bebrütet.

25

Nach der empfohlenen (Zeit/Bebrütung) werden die Keimträger bei 9-facher Verdünnung (je nach Testkeim) von  $10^1$  bis  $10^8$  verdünnt und in den jeweils vorgesehenen Agar im Plattengußverfahren eingegeben.

## Berechnung

30

Alle die zwischen bis 200 Kolonien aufweisen. Bestimmt mittels des gewichteten arithmetischen Mittels:

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1} = x d$$

35

$\bar{C}$  = Anzahl der kolonienbildenden Einheiten je ml/g

$\Sigma c$  = Summe der Kolonien aller Petrischalen, die zur Berechnung herangezogen werden

40

$n_1$  = Anzahl der Petrischalen der niedrigsten Verdünnungsstufe, die zur Berechnung herangezogen werden ( $n_1 = 2$  bei 2 Petrischalen)

$n_2$  = Anzahl der Petrischalen der nächsthöheren Verdünnungsstufe, die zur Berechnung herangezogen werden

$d$  = Faktor der niedrigsten ausgewerteten Verdünnungsstufe, die auf  $n_1$  bezogene Verdünnungsstufe.

45

## Quantitativer Suspensionstest II

### Suspensionsversuch

50

a) Testkeimsuspension mit gewünschtem Testkeim, z. B.  $10^6$ /ml beimpfen 1–60 min einwirken. Gewünschte, zu prüfende Rezeptur in vorgesehene Keimsuspensionsröhrchen (unterschiedliche prozentuale Mengen) eingeben. Einwirkzeiten abwarten und in die je nach Keim entsprechenden Agarplatten eingießen oder beimpfen.

b) Testkeimsuspension vor dem Beimpfen der Testkeime (siehe a) mit der gewünschten zu prüfenden Rezeptur behandeln (siehe a). Einwirkzeiten abwarten und dann mit jeweiligen Testkeimen beimpfen und je nach Testkeim die entsprechenden Agarplatten beimpfen, oder eingießen.

55

## Quantitativer Suspensionstest III

### AGAR-DIFFUSIONSTEST

60

Man gieße Nähragarplatten, die z. B.  $10^4$  Microorganismen/ml enthalten.

Ein steriles Filterpapierblättchen (10 mm) wird mit der zu prüfenden Rezeptur getränkt und auf die Nähragarplatte gelegt.

Nach der Inkubation von (Zeit/Temperatur je nach Keim) die Bildung eines Hemmhofes als positive Reaktion abgelesen.

65

Die Ergebnisse des Versuchs sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt:

# DE 197 26 429 A 1

| Milch-säure     | Benzyl-alkohol  | Glycerin        | Propylen-glykol | Stand der Technik<br>- Beispiele - | Rezeptur         |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------------------|------------------|
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>9</sup> | 5 min. E.Z.                        | Gesamt-keimzahl  |
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>9</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>9</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>8</sup> / ml               | Kontrolle        |
| 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 5 min. E.Z.                        | Entero-bakterien |
| 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>8</sup> / ml               | Kontrolle        |
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>8</sup> | 5 min. E.Z.                        | Entero-kokken    |
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>8</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> | 10 <sup>8</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>8</sup> / ml               | Kontrolle        |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 5 min. E.Z.                        | Lacto-bacillen   |
| 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>5</sup> / ml               | Kontrolle        |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 5 min. E.Z.                        | Hefen            |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>5</sup> / ml               | Kontrolle        |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 5 min. E.Z.                        | Schimmel-pilze   |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 15 min. E.Z.                       |                  |
| 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>4</sup> | 10 <sup>5</sup> | 10 <sup>5</sup> | 60 min. E.Z.                       |                  |
|                 |                 |                 |                 | 10 <sup>5</sup> / ml               | Kontrolle        |

## Zeichenerklärung:

(KBE)

Kolonienbildende Einheiten/gr oder ml

DE 197 26 429 A 1

| 3.<br>Tannin I<br>T<br>Benzyl-<br>alkohol<br>100 T | 2.<br>Tannin I<br>T<br>Benzyl-<br>alkohol<br>3 T | 1 b<br>Tannin I<br>T<br>Benzyl-<br>alkohol<br>1 T | 1 a<br>Tannin | Erfindung<br>- Beispiele -<br>1a<br><br>1b | Rezeptur             |
|--|--|---|---------------|--|----------------------|
| $10^3$   | $10^2$   | $10^2$  | $10^6$        | 5 min. E.Z.                                | Gesamt-<br>keimzahl  |
| $10^3$   | $10^2$   | $10^2$  | $10^6$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^3$   | $10^2$   | $10^3$  | $10^6$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^8$ / ml                                | Kontrolle            |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^2$  | $10^6$        | 5 min. E.Z.                                | Entero-<br>bakterien |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^6$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^6$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^8$ / ml                                | Kontrolle            |
| $10^3$   | $10^4$   | $10^3$  | $10^7$        | 5 min. E.Z.                                | Entero-<br>kokken    |
| $10^2$   | $10^3$   | $10^2$  | $10^6$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^3$   | $10^2$   | $10^1$  | $10^6$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^8$ / ml                                | Kontrolle            |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^2$  | $10^5$        | 5 min. E.Z.                                | Lacto-<br>bacille    |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^5$ / ml                                | Kontrolle            |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 5 min. E.Z.                                | Hefen                |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^1$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^5$ / ml                                | Kontrolle            |
| $10^1$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 5 min. E.Z.                                | Schimmel-<br>pilze   |
| $10^2$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 15 min. E.Z.                               |                      |
| $10^1$   | $10^1$   | $10^1$  | $10^4$        | 60 min. E.Z.                               |                      |
|  |  |   |               | $10^5$ / ml                                | Kontrolle            |



DE 197 26 429 A 1

| 9.<br>Tan-<br>nin<br>1000<br>T<br>Ben-<br>zyl-<br>alko-<br>hol<br>1 T | 8.<br>Tan-<br>nin<br>1000<br>T<br>Ben-<br>zyl-<br>alko-<br>hol<br>1 T | 7.<br>Tan-<br>nin<br>100<br>T<br>Benz<br>yl-<br>al-<br>ko-<br>hol<br>1 T | 6.<br>Tan-<br>nin<br>3 T<br>Benz<br>yl-<br>alkoh<br>ol<br>1 T | 5.<br>Tannin<br>1 T<br>Benzyl-<br>alkohol<br>10000<br>T | 4.<br>Tannin 1 T<br>Benzyl-<br>alkohol<br>1.000 T | Erfindung<br>-<br>Beispiele<br>-            | Rezep-<br>tur               |
|---|---|--|---|---|---|---|-----------------------------|
| $10^5$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^5$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$   | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                                    | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                              | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^4$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt<br>-<br>keimza<br>hl |
|   |   |  |   |   |   | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle                   |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$  | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$  | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$   | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                                    | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                              | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakte-<br>rien   |
|   |   |  |   |   |   | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle                   |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^5$<br>$10^5$   | $10^3$<br>$10^4$<br>$10^4$                                    | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^2$                              | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken           |
|   |   |  |   |   |   | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle                   |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$  | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$   | $10^3$<br>$10^4$<br>$10^3$                                    | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^2$                              | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille           |
|   |   |  |   |   |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle                   |
| $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$  | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$  | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                                    | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                              | $10^2$<br>$10^1$<br>$10^1$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Hefen                       |
|   |   |  |   |   |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle                   |
| $10^3$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$  | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$   | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                                    | $10^2$<br>$10^2$<br>$10^1$                              | $10^1$<br>$10^1$<br>$10^1$                        | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schim-<br>mel-<br>pilze     |
|   |   |  |   |   |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle                   |

DE 197 26 429 A 1

|    |   |  |   |                      |
|----|---|--|---|----------------------|
| 5  | 11. Benzylalkohol<br>1 T<br>Propylenglykol 10 T | 10. Benzylalkohol<br>1 T<br>Propylenglykol 1 T | Erfindung<br>- Beispiele -<br>1b            | Rezeptur             |
| 10 | $10^3$<br>$10^4$<br>$10^4$                      | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^4$                     | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt-<br>keimzahl  |
| 15 |   |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| 20 | $10^3$<br>$10^4$<br>$10^3$                      | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                     | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakterien |
| 25 |   |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| 30 | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                      | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$                     | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken    |
| 35 |   |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| 40 | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$                      | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                     | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille    |
| 45 |   |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| 50 | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                      | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                     | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schimmel-<br>pilze   |
| 55 |   |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |

DE 197 26 429 A 1

| 14. Benzyl-<br>alkohol 1 T<br>Propylen-<br>glykol<br>10.000 T | 13. Benzyl-<br>alkohol 1 T<br>Propylen-<br>glykol<br>1.000 T | 12 Benzyl-<br>alkohol 1 T<br>Propylen-<br>glykol 100 T | Erfindung<br>- Beispiele -<br>1b            | Rezeptur             |
|---|--|--|---|----------------------|
| $10^3$<br>$10^5$<br>$10^5$                                    | $10^5$<br>$10^4$<br>$10^4$                                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^5$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt-<br>keimzahl  |
|   |  |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^5$<br>$10^5$<br>$10^4$                                    | $10^5$<br>$10^4$<br>$10^4$                                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakterien |
|   |  |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^5$<br>$10^5$<br>$10^5$                                    | $10^5$<br>$10^5$<br>$10^5$                                   | $10^5$<br>$10^5$<br>$10^5$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken    |
|   |  |  | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                                    | $10^5$<br>$10^4$<br>$10^4$                                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille    |
|   |  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                                    | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Hefen                |
|   |  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                                    | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                             | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schimmel-<br>pilze   |
|   |  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |

DE 197 26 429 A 1

| 17. Milch-<br>säure 1 T<br>Tannin 1 T<br>Benzylalko-<br>hol 2 T | 16. Benzyl-<br>alkohol 100 T<br>Glycerin 1 T | 15. Benzyl-<br>alkohol 10 T<br>Glycerin 1 T | Erfindung<br>- Beispiele -<br>1b<br>1c      | Rezeptur             |
|---|--|---|---|----------------------|
| $10^2$<br>$10^1$<br>$10^1$                                      | $10^5$<br>$10^5$<br>$10^5$                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt-<br>keimzahl  |
|   |  |   | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^2$<br>$10^1$<br>$10^1$                                      | $10^5$<br>$10^4$<br>$10^4$                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakterien |
|   |  |   | $10^8$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^3$<br>$10^3$<br>$10^2$                                      | $10^5$<br>$10^5$<br>$10^4$                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken    |
|   |  |   | $10^4$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^1$<br>$10^1$<br>$10^1$                                      | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille    |
|   |  |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^1$<br>$10^1$<br>$10^1$                                      | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                   | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^3$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Hefen                |
|   |  |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^1$<br>$10^1$<br>$10^1$                                      | $10^4$<br>$10^4$<br>$10^4$                   | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$                  | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schimmel-<br>pilze   |
|   |  |   | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |

DE 197 26 429 A 1

| 19. Anisol 1 T<br>Tannin 1 T<br>Benzylalkohol 83 T | 18. Zimtsäure 1 T<br>Milchsäure 1 T<br>Benzylalkohol 2 T | Erfindung<br>- Beispiele -                  | Rezeptur             |
|--|--|---|----------------------|
| $10^3$<br>$10^3$<br>$10^3$                         | $10^3$<br>$10^3$<br>$10^2$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt-<br>keimzahl  |
|  |  | $10^4$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^3$<br>$10^3$<br>$10^2$                         | $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakterien |
|  |  | $10^4$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^3$<br>$10^3$<br>$10^4$                         | $10^4$<br>$10^3$<br>$10^3$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken    |
|  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^2$<br>$10^2$<br>$10^2$                         | $10^2$<br>$10^2$<br>$10^2$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille    |
|  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^3$<br>$10^2$<br>$10^2$                         | $10^2$<br>$10^2$<br>$10^2$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Hefen                |
|  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |
| $10^2$<br>$10^1$<br>$10^1$                         | $10^2$<br>$10^2$<br>$10^2$                               | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schimmel-<br>pilze   |
|  |  | $10^5$ / ml                                 | Kontrolle            |

DE 197 26 429 A 1

| 21. Tannin 3 T<br>Benzylalkohol 1 T<br>Glycerin 96 T  | 20. Tannin 3 T<br>Benzylalkohol 1 T<br>Wasser 96 T    | Erfindung<br>- Beispiele -<br>le            | Rezeptur             |
|---|---|---|----------------------|
| 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>2</sup> | 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Gesamt-<br>keimzahl  |
|   |   | 10 <sup>8</sup> / ml                        | Kontrolle            |
| 10 <sup>2</sup><br>10 <sup>2</sup><br>10 <sup>2</sup> | 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>2</sup><br>10 <sup>2</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>bakterien |
|   |   | 10 <sup>8</sup> / ml                        | Kontrolle            |
| 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>2</sup> | 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Entero-<br>kokken    |
|   |   | 10 <sup>8</sup> / ml                        | Kontrolle            |
| 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>2</sup><br>10 <sup>2</sup> | 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Lacto-<br>bacille    |
|   |   | 10 <sup>5</sup> / ml                        | Kontrolle            |
| 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup> | 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>4</sup><br>10 <sup>3</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Hefen                |
|   |   | 10 <sup>5</sup> / ml                        | Kontrolle            |
| 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>2</sup> | 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup><br>10 <sup>3</sup> | 5 min. E.Z.<br>15 min. E.Z.<br>60 min. E.Z. | Schimmel-<br>pilze   |
|   |   | 10 <sup>5</sup> / ml                        | Kontrolle            |

DE 197 26 429 A 1

PRÜFUNG DER ABHÄNGIGKEIT DER HALTBARKEIT DURCH VERSCHIEDENE  $a_w$  WERTE  
(FEUCHTIGKEITSGEHALT)

BEISPIELE:

|           | REZEPTUR NR. 18<br>Dosierung: 0,005 % | NR. 19<br>0,002 % | NR. 20<br>0,1 % |
|-----------|---------------------------------------|-------------------|-----------------|
| KUCHEN    | 24 % Feuchtigkeitsgehalt<br>18 % "    | 28<br>28          | 20<br>20        |
|           | 8 % "                                 | 28                | 20              |
| WURSTBRÄT | 46 % Feuchtigkeitsgehalt<br>38 % "    | 24<br>24          | 18<br>18        |

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

65 60 55 50 45 40 35 30 25 20 15 10 5

PRÜFUNG AUF ABHÄNGIGKEIT DER pH-WERTE  
DURCH ZUGABE VON ADDITIVEN GEM. ERFINDUNG

|                    |             |                                  |
|--------------------|-------------|----------------------------------|
| FRIKADELLEN pH 5,4 | MHD 15 Tage | REZEPTUR Nr. 20 Dosierung 0,1 %  |
| pH 5,4             | 10 Tage     | Stand der Technik                |
| WEISSWURST pH 6,2  | MHD 23 Tage | REZEPTUR Nr. 3 Dosierung 0,001 % |
| pH 6,2             | 20 Tage     | Stand der Technik                |



OPTIK/SENSORIKBEWERTUNG  
aller Rezepturen

Beispiele Nr.

2 3 18 19 20  
Probanden (10 x)

Bewertung Sensorik und Optik

9 x E/1 x A 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

KUCHEN

10 x E 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

WURSTBROT

8 x E/2 x A 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

FRIKADELLEN

9 x E/1 x A 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

WEISSWURST

10 x E 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

ROSTBRATWURST

10 x E 10 x E 10 x E 10 x E 10 x E

BRÜHWURST

Zeichen: E = EINWANDFREI  
Zeichen A = KEINE AUSSAGE

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

# DE 197 26 429 A 1

Die Wirkung

Beispiele

MHD-Werte für verschiedene mikrobiell verderbliche Produkte

| Produkt                 | MHD-Soll<br>nach Stand<br>der Technik   | MHD-Ist<br>mit Additiv<br>gem. Erfindung  | Rezeptur<br>-Nr. | Dosierung<br>auf<br>Rohmasse<br>Gew. % |
|-------------------------|---|---|------------------|--|
| Rindfleischwurst        | 21 - 28 Tage<br>GKZ $10^8$<br>Ent. $> 10^2$<br>Lact. $5 \cdot 10^6$               | 37 - 42 Tage<br>GKZ $10^4$<br>Ent. $< 10^2$<br>Lact. $10^6$                       | 5                | 0,25                                   |
| Hühnerbrust in<br>Aspik | 21 Tage<br>Werte nach 18 T<br>GKZ $10^8$<br>Ent. $> 10^6$<br>Lact. $2 \cdot 10^4$ | $> 40$ Tage<br>Werte nach 18 T<br>GKZ $> 10^2$<br>Ent. $> 10^2$<br>Lact. $> 10^2$ | 12               | 0,1                                    |
| Kochschinken            | 21 Tage<br>Werte nach 14 T<br>GKZ $10^6$<br>Ent. $10^2$<br>Lact. $< 10^2$         | $> 30$ Tage<br>Werte nach 14 T<br>GKZ $< 10^3$<br>Ent. $< 10$<br>Lact. $< 10^2$   | 1                | 0,1                                    |
| Brühwurstbrät           | 28 Tage<br>GKZ $10^7$<br>Ent. $10^4$<br>Lact. $10^6$                              | $> 35$ Tage<br>GKZ $10^7$<br>Ent. $10^2$<br>Lact. $10^2$                          | 18               | 0,005                                  |
| Weißwurst               | 20 Tage<br>Werte nach 20 T<br>GKZ $10^7$<br>Ent. $10^3$<br>Lact. $10^7$           | $> 23$ Tage<br>Werte nach 23 T<br>GKZ $10^6$<br>Ent. $10^2$<br>Lact. $< 10^2$     | 3                | 0,001                                  |

# DE 197 26 429 A 1

| Produkt                    | MED-Soll<br>nach Stand<br>der Technik  | MED-Ist<br>mit Additiv<br>gem. Erfindung   | Rezeptur<br>-Nr. | Dosierung<br>auf<br>Rohmasse<br>Gew. % |
|----------------------------|--|--|------------------|--|
| Kuchen                     | 20 Tage<br>Werte nach T<br>GKZ.....<br>Ent. ....<br>Lact.....                                      | > 28 Tage<br>Werte nach T<br>GKZ.....<br>Ent. ....<br>Lact.....                                      | 19               | 0,002                                  |
|                            | 10 <sup>5</sup> Hefen<br>10 <sup>6</sup> Schimmelpilze   | 10 <sup>3</sup> Hefen<br>10 <sup>3</sup> Schimmelpilze   |                  |  |
| Frikadellen                | 10 Tage<br>GKZ 10 <sup>6</sup><br>Ent. 10 <sup>4</sup><br>Lact. 10 <sup>6</sup>                    | 15 Tage<br>GKZ 10 <sup>5</sup><br>Ent. 10 <sup>3</sup><br>Lact. 10 <sup>5</sup>                      | 20               | 0,1                                    |
|                            | > 10 <sup>2</sup> Enterokokken<br>10 <sup>4</sup> Hefen<br>> 10 Schimmelpilze                      | < 10 Enterokokken<br>< 10 Hefen<br>< 10 Schimmelpilz   |                  |  |
| Feinkost                   | 21 Tage<br>Werte nach 21 T<br>GKZ 10 <sup>8</sup><br>Ent. 10 <sup>4</sup><br>Lact. 10 <sup>6</sup> | > 30 Tage<br>Werte nach 30 T<br>GKZ 10 <sup>6</sup><br>Ent. 10 <sup>2</sup><br>Lact. 10 <sup>3</sup> | 2                | 0,001                                  |
|                            | 10 <sup>4</sup> Hefen<br>10 <sup>2</sup> Schimmelpilze   | 10 <sup>1</sup> Hefen<br>10 <sup>1</sup> Schimmelpilze   |                  |  |
| Dressing -<br>pflanzlich - | 30 Tage<br>Werte nach 30 T<br>GKZ 10 <sup>7</sup><br>Ent. 10 <sup>5</sup><br>Lact. 10 <sup>4</sup> | > 45 Tage<br>Werte nach 45 T<br>GKZ 10 <sup>7</sup><br>Ent. 10 <sup>3</sup><br>Lact. 10 <sup>3</sup> | 6                | 0,002                                  |
|                            | 10 <sup>2</sup> Enterokokken<br>10 <sup>3</sup> Hefen<br>10 <sup>1</sup> Schimmelpilze             | 10 <sup>1</sup> Enterokokke<br>< 10 <sup>1</sup> Hefen<br>10 <sup>1</sup> Schimmelpil                |                  |  |

## Patentansprüche

- Verfahren zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten durch Zusatz von Additiven dadurch gekennzeichnet, daß als Additiv ein Gemisch eingesetzt wird, das
  - Polyphenol, insbesondere Tannin, Catechin, Flavon, Gerbsäure, Gallussäure sowie deren Derivate ggf. im Gemisch mit wenigstens einem weiteren einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen und/oder
  - Benzylalkohol im Gemisch mit wenigstens einem weiteren, ggf. von den in Komponente a) verwendeten

# DE 197 26 429 A 1

Verbindungen verschiedenen, einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen,

c) ggf. wenigstens eine, von den in Komponente a) verwendeten Verbindungen verschiedene organische Säure und/oder wenigstens eines von deren physiologischen Salzen mit 1 bis 15 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 10 C-Atomen,

d) ggf. Phenole, Acetate, Ester, Terpene, Acetale und/oder ätherische Öle und

e) ggf. einen Lösungsvermittler, insbesondere Glycerin, Propylenglycol, Wasser, Speiseöle, Fette enthält, wobei das Mischungsverhältnis der Komponenten a) zu b), c), d), e) jeweils zwischen 1 : 1 bis 1 : 10.000 und 10.000 : 1 bis 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 bis 1 : 1000 und 1000 : 1 bis 1 : 1 liegt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis der Komponenten a) zu b) zwischen 1 : 1 bis 1 : 1.000 und 1 : 1.000 bis 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 liegt.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente b) Benzylalkohol enthält.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente b) Benzylalkohol im Gemisch mit weiteren Alkoholen enthält, wobei das Mischungsverhältnis zwischen 1 : 1 und 1 : 10.000 oder 10.000 : 1 und 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1.000 bis 1 : 1 oder 1 : 1 bis 1 : 1.000 liegt.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 1 ppm bis 10 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 0,001 Gew.-% bis 0,5 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 0,002 Gew.-% bis 0,25 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

8. Additiv zur Haltbarkeitsverbesserung und/oder Stabilisierung von mikrobiell verderblichen Produkten dadurch gekennzeichnet, daß es ein Gemisch enthaltend

a) Polyphenol, insbesondere Tannin, Catechin, Flavon, Gerbsäure, Gallussäure sowie deren Derivate ggf. im Gemisch mit wenigstens einem weiteren einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen und/oder

b) Benzylalkohol im Gemisch mit wenigstens einem weiteren, ggf. von den in Komponente a) verwendeten Verbindungen verschiedenen, einwertigen oder mehrwertigen Alkohol mit 2 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 7 C-Atomen,

c) ggf. wenigstens eine, von den in Komponente a) verwendeten Verbindungen verschiedene organische Säure und/oder wenigstens eines von deren physiologischen Salzen mit 1 bis 15 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 10 C-Atomen,

d) ggf. Phenole, Acetate, Ester, Terpene, Acetale und/oder ätherische Öle und

e) ggf. einen Lösungsvermittler, insbesondere Glycerin, Propylenglycol, Wasser, Speiseöle, Fette enthält, wobei das Mischungsverhältnis der Komponenten a) zu b), c), d), e) jeweils zwischen 1 : 1 bis 1 : 10.000 und 10.000 : 1 bis 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 bis 1 : 1000 und 1000 : 1 bis 1 : 1 liegt.

9. Additiv nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis zwischen den Komponenten a) und b) zwischen 1 : 1 bis 1 : 1.000 und 1 : 1.000 bis 1 : 1, vorzugsweise 1 : 1 bis 1 : 100 und 100 : 1 bis 1 : 1 liegt.

10. Additiv nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente b) Benzylalkohol enthält.

11. Additiv nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente b) Benzylalkohol im Gemisch mit weiteren Alkoholen enthält, wobei das Mischungsverhältnis zwischen 1 : 1 und 1 : 10.000 oder 10.000 : 1 und 1 : 1, vorzugsweise zwischen 1 : 1 und 1.000 oder zwischen 1 : 1.000 und 1 : 1 liegt.

12. Additiv nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 1 ppm bis 10 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

13. Additiv nach einem der Ansprüche 8 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 0,001 Gew.-% bis 0,5 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

14. Additiv nach einem der Ansprüche 8 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Additiv in Mengen von 0,002 Gew.-% bis 0,25 Gew.-% dem mikrobiell verderblichen Produkt zugesetzt wird.

15. Verwendung des Additivs nach einem der Ansprüche 8 bis 14 zur Verbesserung der Haltbarkeit und/oder Stabilisierung mikrobiell verderblicher Produkte, insbesondere von Lebensmitteln und Kosmetika.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**